

Encymberechnungen
des Kohlehydrat-Stoffwechsels im Gewebe
und in Körperflüssigkeiten
bei Gesunden und Kranken

von

MANFRED MARZ

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. W. SEITZ

Encymberechnungen des Kohlehydrat-
Stoffwechsels im Gewebe und in Körper-
flüssigkeiten bei Gesunden und Kranken

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

Manfred Marz

aus

Augsburg

1959



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. K. Kolle

Tag der mündlichen Prüfung: 25.6.1959

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S .

Einleitung	3
Fermentbestimmung	4
Berechnung der Fermentaktivitäten	5
Einzelne Fermenttests	6
Darstellung der Versuchsanordnungen	8
Statistische Berechnungen	11
Ergebnisse und Diskussion	13
Vorkommen und Verhalten der untersuchten	
Fermente im Serum	13
Verhalten der Fermente im Liquor neurolo-	
gisch Gesunder und Kranker	18
Verhalten der Fermente in Erythrocyten	
und Leucocyten Gesunder und Kranker	22
Verhalten der Fermente in der Leber Ge-	
sunder und Kranker	24
Literaturverzeichnis	28



Digitized by the Internet Archive
in 2026

E I N L E I T U N G

Die Methode der Fermentbestimmung ist bis vor wenigen Jahren für die biochemische Grundlagenforschung angewandt worden. Heute hat die Bestimmung der Encymaktivitäten im Serum, in differentialdiagnostischer Hinsicht, besondere klinische Bedeutung. Mit den erarbeiteten Methoden ist es der Klinik ermöglicht, Störungen im Ablauf encymatischer Umsetzungen nicht nur im Serum, sondern auch in kranken Organen und am kranken Menschen zu verfolgen.

Dabei haben die Glykolyse Encyme nicht dieselbe Bedeutung erlangt wie die Phosphatasen und Esterasen. BRUNS fand bei der akuten Hepatitis die Aktivität der Serumaldolase stark erhöht, so daß der Aldolase Test zur differentialdiagnostischen Unterscheidung von Hepatitis und Stauungsikterus herangezogen werden kann (1). Die bisher gewonnenen Ergebnisse lassen vermuten, daß weitere Encyme des Kohlehydratstoffwechsels ein für bestimmte Krankheitsbilder charakteristisches Verhalten zeigen. Diese Überlegung bildete die Grundlage einer Untersuchungsreihe glykolytischer Encyme, die an der Medizinischen Poliklinik der Universität München in einem Arbeitskreis vorgenommen wurde. Eine ausführliche Darstellung der Methodik und des Ergebnisses ist in der Klinischen Wochenschrift veröffentlicht von A. Engelhardt, W. Seitz und I. Woller.

Die Berechnung der Encyme, sowie die Auswertung und Zusammenstellung des Ergebnisses wird hier dargestellt.

FERMENTBESTIMMUNG

Die encymatischen Testmethoden gehören zu den modernen biochemischen Methoden der encymatischen Analyse und encymatischen Diagnostik. Sie weisen eine überlegene Spezifität im Vergleich zu anderen, rein chemischen Bestimmungsmethoden auf. Die Encymproteine stellen in bezug auf ihre Spezifität die zuverlässigsten Reagenzien dar, die man heute kennt. Diese Methode ist für Untersuchungen mit Mikromengen geeignet, weil sie sich mit kleinsten Encymkonzentrationen durchführen läßt.

Grundlage der encymatischen optischen Teste ist die Lichtabsorption eines der an der Reaktion teilnehmenden Co-Encyme oder Substrate. Von den an der Glykolyse beteiligten Encymsystemen sind zwei an der "Pyridinkatalase" beteiligt, (2). Die Absorption des reduzierten Diphosphopyridinnucleotids (DPN-H) wird am häufigsten für solche Messungen herangezogen. 1935 berichteten O. WARBURG und CHRISTIAN über die Messung der Encymaktivitäten durch die Änderung der Lichtextinktion des hydrierten Co-Ferments DPN^+ im ultravioletten Licht.

Die Abschwächung der Lichtextinktion des hydrierten Co-Ferments DPN^+/min gilt als Maß der Encymaktivität in der zu prüfenden Lösung.

In der oxydierten Form zeigt DPN keine Absorption im Bereich der Wellenlängen 300 - 400 m μ . Dehydrogenase-Reaktionen, deren Co-Encym DPN ist, können mit Encymreaktionen, deren Reaktionsprodukt in einer DPN -abhängigen Beziehung steht, bestimmt werden. Da im Test jeweils eine DPN^+ -abhängige Reaktion mit einer oder mehreren im Stoffwechsel benachbarten Reaktionen gekoppelt

werden kann (zusammengesetzter encymatisch optischer Test), läßt sich damit die Aktivität einer großen Anzahl Fermente des Kohlehydratstoffwechsels bestimmen.

Bei der Aktivitätsbestimmung der Encyme mißt man die Geschwindigkeit des Substratumsatzes. Es wird die Reaktion mit Substrat- und Co-Encymüberschuß angesetzt. Bei dieser Einstellung des Reaktionsgleichgewichts ist der Ablauf der Reaktion quantitativ. Die Menge des im Test vorhandenen Ferments entspricht stöchiometrisch der oxydierten Menge DPN.

F E R M E N T B E R E C H N U N G

Als Definition der "Aktivität von Encymen" benützt man die Einheiten nach BÜCHER. Die Berechnung erfolgte nach der Aktivitätsdefinition für verschiedene Dehydrasen und Encyme, die in gekoppelter Reaktion mit diesen reagieren.

Eine Encymeinheit (BÜCHER) ist die Encymmenge, die bei 25° die DPN-H Extinktion bei 366mm in 100 sec um 0,100 ändert. Bezogen auf 1 ml und die 10 mm Küvette setzt eine Einheit 0,030 μ Mol (Mikromol)/ml oder 20,1 gamma/ml DPN um. Eine BÜCHER - Einheit entspricht einem Substratumsatz von $1,76 \cdot 10^{-8}$ Mol/min/ml Testansatz.

Aus der Änderung der Extinktion im U.V. lassen sich so die Aktivitäten der zugehörigen Encymsysteme und die Konzentrationen der an der Reaktion beteiligten Substrate mit großer Genauigkeit berechnen. Die mittlere Extinktionsänderung/min ergibt sich aus dem Quotienten der Differenz der Beobachtungszeit und der Minutenanzahl.

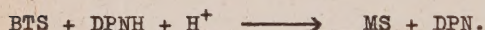
Für das Serum erfolgte die Berechnung nach der Formel

$$\frac{100 : \text{Testvolumen}}{\text{sec für } \Delta t \text{ von } 100 \cdot \text{Vol. Serum im Test}} = E/\text{ccm Serum.}$$

Für die Berechnung der Encymaktivitäten im Liquor, der Leber und den Blutzellen wurde das Formelschema den verwandten Testmethoden angepaßt.

E I N Z E L N E F E R M E N T T E S T S

Milchsäuredehydrase (MDH) katalysiert die Umwandlung der Brenztraubensäure (BTS) in Milchsäure (MS).

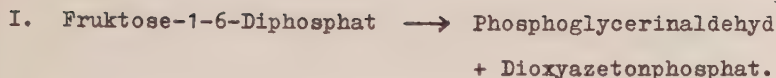


Setzt man zu einer Lösung, die Brenztraubensäure und DPNH enthält, MDH zu, so läuft die Reaktion vollständig von links nach rechts ab. Das Gleichgewicht liegt vollständig auf Seite der Milchsäurebildung. Im Gewebe besteht dauernd ein Überschuß an Milchsäure gegenüber Brenztraubensäure. Beim Ablauf des Tests verschwindet das hydrierte DPN^+ und damit die Lichtabsorption bei 366 m μ .

KUBOWITZ und OTT (3) haben die ersten lichtoptischen Untersuchungen von EULER und Mitarbeiter (4) und MEYERHOF und OHLMEYER (5) erweitert und optimale Testbedingungen angegeben. Die Untersuchungen an unserer Klinik wurden nach dieser Modifikation von KUBOWITZ und OTT durchgeführt.

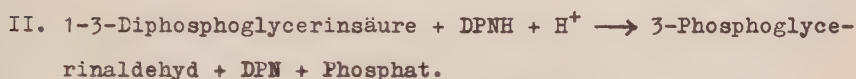
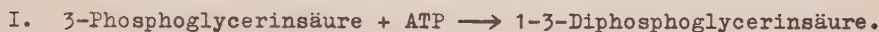
Aldolase (Ald) kann nur im gekoppelten Test gemessen werden.

Nach BÜCHER (6) sowie LEUTHARDT (7) in folgender Reaktion:



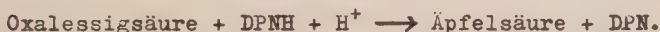
Die Reaktion II verläuft mit dem Hilfsferment Glycerophosphat-dehydrase. Da sie von DPNH abhängig ist, kann sie lichtoptisch bestimmt werden.

Phosphatübertragendes Ferment I (PÜ_I) wurde im zusammengesetzten optischen Test bestimmt. Nach BÜCHER (6) :



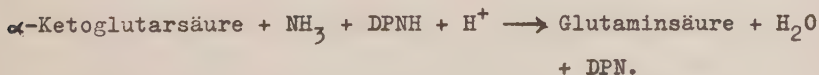
Die Reaktion II katalysiert als Hilfsferment die Triosephosphat-dehydrase.

Äpfelsäuredehydrase (ÄDH) wirkt nach der Reaktionsgleichung:



Der Test wurde nach OCHA, PLAUT und LOTSPEICHER mit einigen Modifikationen ausgeführt (8).

Glutaminsäuredehydrase (GSDH) katalysiert die Umwandlung der α -Ketoglutarsäure in Glutaminsäure. Bei Zusatz von NH_3 -Donatoren verläuft die Reaktion völlig in Richtung der Bildung von Glutaminsäure.



KURZE DARSTELLUNG DER VERSUCHS ANORDNUNGEN

Die Durchführung aller hier genannter Methoden und die Zusammensetzung der Testlösungen sind ausführlich dargestellt von A.ENGELHARDT in der Klinischen Wochenschrift (8).

Serum

Bei nüchternen, ruhenden Personen erfolgte die Blutentnahme aus der gestauten Vene. Das sofort eisgekühlte Blut wurde spätestens 10 Minuten danach zentrifugiert.

Bei der Aktivitätsbestimmung von Encymen des Serums ist zu beachten, daß auch andere Fermente als das interessierende Encym vorhanden sind und mit serumeigenen Substraten reagieren, sobald ein DPNH - Überschuß gegeben wird. Es handelt sich dabei meist um die relativ hoch konzentrierte MDH, die wegen des Brenztraubensäurespiegels im Serum DPNH verbraucht. Vor Messung der zu testenden Encymreaktion (Start mit dem entsprechenden Substrat) wird deshalb das Ende der nicht interessierenden Reaktion abgewartet. Dieser sogenannte "Vorlauf" dauert 60 - 90 Minuten.

Die Werte wurden als Fermenteinheiten (FE)/ccm Serum angegeben.

Zahl der Versuchspersonen: 107

Leucocyten

Die Trennung der Leucocyten und Erythrocyten wurde nach einem von Dr.EHRHARD (9) ausgearbeiteten Verfahren durchgeführt. Die Leucocyten wurden nicht vollständig vom Serum getrennt, da beim Waschen Encyme in den Überstand verloren gehen. Aus der

Leucocyten suspension wurden zuerst Proben zur Kammerzählung entnommen, darauf eine definierte Menge unter Eiskühlung 2 Minuten zur Fermentbestimmung homogenisiert. Die Enzymaktivitäten wurden unter Berücksichtigung des Ergebnisses der Kammerzählung als Fermenteinheiten/Mill. Zellen definiert.

Zahl der Versuchspersonen: Zur Untersuchung kam Blut von 30 Gesunden, 12 Patienten mit myeloischer und 2 mit lymphatischer Leukämie, sowie 3 Patienten mit Myeloblastenleukämie. (Klinische Befunde siehe Ergebnisse, Tabelle I). Bei Gesunden wurden in der Mehrzahl der Fälle Doppelbestimmungen durchgeführt.

Erythrocyten

Aus der getrennten Erythrocytenschicht wurde eine definierte Menge entnommen und gewaschen. Daran anschließend wurde die Erythrocytenmasse (0,1 ml) durch Zusatz von destilliertem Wasser (5 ml) haemolysiert. Die Fermentwerte wurden pro Million Erythrocyten auf Grund einer am Anfang durchgeführten Kammerzählung definiert. Bestimmt wurde nur die MDH.

Liquor

Der Liquor wurde teils durch Lumbal-, teils durch Suboccipitalpunktion gewonnen. Er wurde sofort eiskühlt, und spätestens nach 2 Stunden gemessen. Die Zellen sind durch Zentrifugieren entfernt worden. In mehreren Versuchen wurde bei demselben Patienten die Fermentkonzentration des lumbalen mit der des occipitalen Liquors verglichen. Da sich keine wesentlichen Unterschiede ergaben, wurden alle Bestimmungen gemeinsam ohne Rücksicht auf den Ort der Entnahme ausgewertet.

Zahl der Versuchspersonen: 7 neurologisch unauffällige Patienten, 171 Patienten jeden Lebensalters mit den verschiedensten neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen.

Leber

Lebergewebe wurde durch Biopsie bei Patienten unserer Klinik entnommen. Die mit Hilfe der Rohhohlnadel gewonnenen Leberzylinder wurden in zwei Hälften geteilt, die eine zur histologischen Untersuchung verwendet, die andere homogenisiert.

Zur Untersuchung kamen 50 Leberzylinder von 44 Patienten. Die zur Fermentanalyse bestimmten Gewebsteile wurden mit eiskühler physiologischer Kochsalzlösung gespült, getrocknet und gewogen. Das Homogenisat wurde zentrifugiert und im Überstand MDH und Ald bestimmt. Cytochrom-c-Reduktase und Glutaminsäuredehydrase wurden im Gesamthomogenat gemessen. Die Enzymaktivitäten wurden als Fermenteinheiten/g Leber Feuchtgewicht definiert. Bei der Auswertung der Ergebnisse war allein der histologische Befund maßgebend.

Es wurden vier Gruppen nach folgenden histologischen Kriterien gebildet:

Gruppe I: Normales Lebergewebe

Gruppe II: Entzündliche Zellinfiltrate in den Glisson'schen Feldern, im Leberparenchym oder in den Gallengängen.

Gruppe III: Degenerative Veränderungen wie Auflockerung, tropfige Entmischung des Protoplasmas, Kernpyknose.

Gruppe IV: Bindegewebiger Umbau

S T A T I S T I K

Arithmetischer Mittelwert (Parameter für Kollektive)

$$\bar{x} = \frac{1}{N} S(x)$$

N = Anzahl der Glieder

S = Summierungszeichen

$$S(x) = x_1 + x_2 + x_3 + \dots$$

Streuung des Mittelwertes

Die Streuung ist definiert als der Quotient aus der Summe aller ins Quadrat erhobener Abweichungen der Einzelwerte vom Mittelwert, dividiert durch die um 1 verminderte Gesamtzahl N der Einzelwerte. Die Standardabweichung s ist die Quadratwurzel der Streuung s^2 .

$$s^2 = \frac{1}{N - 1} S(x - \bar{x})^2$$

s^2 = Streuung

s = Standardabweichung

Der Normalbereich der Streuung: $x \pm 2 s$

Da die Mittelwerte kleiner Stichproben nicht mehr normal verteilt sind im Gegensatz zu denen größerer Stichproben, berechnet man sie nach der Verteilung von GOSSET. Diese stellt eine der Normalverteilung sehr ähnliche, aber flachere Kurve dar, deren Streuung von der Anzahl der Freiheitsgrade abhängt, welche mit der Gesamtzahl N der Einzelwerte in bestimmtem Zusammenhang steht.

Ist die Anzahl der Freiheitsgrade n kleiner als 60, so gehorcht

sie der Verteilung nach GOSSET, ist sie größer als 60, so gehorcht sie der Normalverteilung:

$$\text{Freiheitsgrad } n = N + N' - 2$$

Statistische Prüfung auf Zufall oder Nichtzufall

Sie beruht auf dem Nachweis, daß die Standardabweichung des Mittelwertes mit großer Wahrscheinlichkeit nicht auf Zufall beruht; der umgekehrte Beweis ist nie sicher durchführbar.

Bei der Prüfung der Signifikanz der Differenz zweier Mittelwerte erhält man die Abweichung c (für n größer als 60) oder t (für n kleiner als 60), mit der man die Wahrscheinlichkeit P bestimmt durch Division der Mittelwertsdifferenz durch die Standardabweichung der Mittelwertsdifferenz.

$$t \text{ oder } c = \frac{\bar{x} - \bar{x}'}{s_D}$$

Für kleinere Stichproben, wenn $N + N' - 2$ kleiner als 60, wirft man die beiden Stichproben zusammen und berechnet ihre gemeinsame Streuung nach der Formel:

$$s^2_{x,x'} = \frac{S(\bar{x}^2) - \bar{x} S(x) + S(x'^2) - \bar{x}' S(x')}{N + N' - 2}$$

$$s_D = \sqrt{\frac{s^2_{xx'}}{N} + \frac{s^2_{xx'}}{N}}$$

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

VORKOMMEN UND VERHALTEN DER UNTERSUCHTEN FERMENTE IM SERUM

Als Enzyme in bestimmbarer Menge fanden sich bei Gesunden: Milchsäuredehydrase, Aldolase, Phosphatübertragendes Ferment I. und Äpfelsäuredehydrase. Glutaminsäuredehydrase konnte nur bei Leberkrankheiten im Serum bestimmt werden. Die quantitativen Werte sind als Einheiten/ml Serum in Tab.1 zusammengefaßt.

T a b e l l e 1

	Anzahl	MDH FE/ml	ÄDH FE/ml	Ald FE/ml	PÜ I FE/ml	GSDH FE/ml
Gesunde	107	3,44 ±0,34	1,29 ±0,19	0,22 ±0,03	0,61 ±0,17	∅
Myel. Leuk.	10	13,14 ±3,38	4,46 ±1,31	0,55 ±0,06	2,27 ±1,54	∅
Ak.lymph.Leuk.	2	6,58	2,15	1,28	2,17	∅
Chron. " "	3	5,46	1,89	0,68	0,80	∅
Myelobl.-Leuk.	3	6,55	3,50	0,49	0,60	∅
Beh.Perniciosa	3	3,46	1,18	0,25	0,71	∅
Unbeh. "	1	44,90	17,20	0,96	0,70	∅
Hämolyt.Anämie	1 ⁺	25,90	9,15	0,36	1,15	∅
Hepatitis	8	4,27 ±1,61	1,52 ±0,99	0,34 ±0,14	0,59 ±0,22	0,15 ±0,08
Lebercirrhose	22	3,67 ±1,98	1,28 ±0,47	0,33 ±0,18	0,37 ±0,12	0,10 ±0,08
Ak. gelbe Le- beratrophie	1	11,85	3,95	1,33	2,25	1,17
Herzinfarkt	3	8,57	1,35	0,17	0,45	∅

⁺ Mittelwert aus 10 Einzelbestimmungen während des Krankheitsverlauf.

Milchsäuredehydrase: Während bei Gesunden der MDH-Mittelwert 7,44 ($\pm 0,34$) FE betrug, fand sich bei verschiedenen Blutkrankheiten eine signifikante Erhöhung. Bei der Myeloischen Leukämie mit 13,14 FE ist das besonders ausgeprägt, während die Encymkonzentration der Myeloblastenleukämie wie der akuten und chronischen Lymphatischen Leukämie mit ihren Werten niedriger, aber deutlich signifikant gegenüber der Norm ist. Bei einem Patienten mit unbehandelter Perniciosa fand sich ein außerordentlich hoher Wert, der sich unter der Behandlung zusehends normalisierte. Dieser Befund deckt sich mit dem Ergebnis eines erhöhten MDH-Spiegels im Serum bei Perniciöser Anämie von HESS und GEHM (10). Ein hoher Wert zeigte sich bei einem Patienten mit Hämolytischer Anämie.

Aldolase: Die Serumaldolasewerte bei Leukämie waren erhöht, jedoch nicht so deutlich wie bei der Milchsäuredehydrase. Bei der Gruppe vom acht Hepatitispatienten waren die Werte für die Serumaldolase erhöht. BRUNS fand die Serumaldolase bei akuter Hepatitis stark erhöht (1, 11, 12). Ein Vergleich der Absolutwerte ist wegen der verschiedenen Testmethoden nicht möglich.

Äpfelsäuredehydrase und Phosphatübertragendes Ferment I: Bei den leukämischen Blutkrankheiten zeigen beide Fermente eine Erhöhung, mit Ausnahme des PÜ I Wertes bei Myeloblastenleukämie. Besonders hoch liegt auch die Encymkonzentration der ÄDH bei der Perniciosa. Die Hepatitiswerte beider Fermente im Serum unterscheiden sich nicht von der normalen Streubreite. Bei Herzinfarkt und Lebercirrhose sind die Werte der PÜ I Konzentration unter der Norm. Einem hohen Wert der ÄDH bei der Hämolytischen Anämie.

lytischen Anämie steht eine nur um das doppelte erhöhte PÜ I gegenüber.

Glutaminsäuredehydrase: Während bei der Messung im Serum Gesunder und Blutkranker keine bestimmbar Encymengen mit den angewandten Methoden nachweisbar waren, fanden sich bei Leberaffektionen deutlich messbare Konzentrationen. Besonders hoch bei der akuten Gelben Leberatrophie.

Das Verhalten der MDH wurde im Serum bei den verschiedenen Parenchymerkrankungen, Rheumatischen, Stoffwechsel- und Infektionskrankheiten bestimmt. Das Ergebnis ist in Tabelle 2 angegeben. Bei den Parenchymerkrankungen ist die MDH mit Ausnahme der Leberschädigungen und des Herzinfarktes nicht erhöht. Erhöhte Werte fanden sich für die progressive Muskelatrophie und die Infektionskrankheiten. Bei 18 untersuchten Patienten mit Neoplasmen ist der Mittelwert im Serum normal.

Der quantitative Anteil der Serumenzyme am Gesamteiweißgehalt des Serums wurde berechnet. Die Berechnung der Encymengen/g Protein des Serums und in Prozenten des Gesamtproteins beruht auf der Feststellung, daß ein Encym immer äquimolekulare Mengen DPNH umsetzt. Die Umsatzzahl für MDH beträgt bei einem p_H von 8,15 und 20° 30000 Mol DPNH/min/ 10^5 g Encymprotein(13). Das Ergebnis dieser Berechnungen hängt ab von dieser eingesetzten Turnover-Zahl, die bei unterschiedlichen Reaktionsbedingungen verschiedene Werte zeigt. Danach würden menschliche Seren Gesunder etwa 0,18 gamma % MDH Protein/Gesamtprotein enthalten. Ähnlich niedrig mit 0,16 gamma liegt der berechnete Wert für die Aldolase und besonders niedrig mit 0,026 gamma

für das PÜ I. Tabelle 3. Aus diesem Ergebnis ersieht man den winzigen Anteil des spezifischen Fermentproteins am Gesamtprotein des Serums.

T a b e l l e 3

	Anzahl		MDH	Ald	PÜ I
Serum	107	FE/ml	3,44	0,22	0,61
			$\pm 0,34$	$\pm 0,03$	$\pm 0,17$
		FE/g Protein	52,70	3,37	9,36
		FE Protein in % d. Ges. Proteins	0,00018	0,00016	0,000026
		FE/10 ¹⁰ Zellen	500	46	270

Diskussion:

Der Anteil der Enzyme am Gesamtprotein des Serums ist sehr gering. Der größte Teil des im Serum vorhandenen Eiweißes scheint deshalb keinen encymatischen Zwecken, sondern anderen Funktionen zu dienen.

Die Untersuchungen der glycolytischen Serumenzyme bei Gesunden und Kranken zeigten trotz des sehr niedrigen Encymprotein-gehalts des Serums deutliche Veränderungen in der bestimmbaren Encymkonzentration. Da diese Veränderungen im Serum für einen Krankheitsvorgang nicht spezifisch sind, kommt ihrer Bestimmung weniger eine diagnostische Bedeutung, als eine theoretische zu. Das gilt mit Ausnahme der differentialdiagnostischen Unterscheidung von Hepatitis und Stauungsikterus. Die Ergebnisse ermöglichen eher Rückschlüsse auf die Herkunft der Serumenzyme und den Mechanismus ihres Übertritts ins Serum, aber auch auf Vorgänge, die sich bei pathologischen Prozessen in den Körperzellen selbst abspielen.

Über die Ursache der pathologischen Werte von Serumencymen und Substraten des intermediären Stoffwechsels besteht bislang in der Literatur keine übereinstimmende Ansicht. Das gilt auch von der Herkunft der Normalwerte der Encyme im Serum Gesunder. Sie scheint verschiedener Art zu sein. WARBURG und CHRISTIAN (14) hatten den Muskel als vornehmlichste Quelle der Serumal-dolase genannt. Daneben muß aber auch die Leber für dieses En-cym als Ursprungsort genannt werden, da nach den Untersuchungen von BRUNS (1, 11, 12) bei schweren experimentellen Leberschä-den die Aktivität des Leberencyms selbst sinkt, während die des Serums stark ansteigt. Es ist auffällig, daß einige Fermen-te bei erhöhter Aktivität im Plasma eine erniedrigte in der erkrankten Zelle aufweisen. Befunde WARBURGS (15) zeigen, daß Tumorzellen entsprechend ihrer Stoffwechselaktivität Fermente ins Serum abgeben oder aus diesem aufnehmen. Danach muß ein Austausch von Encymeiß auch bei intakten Zellsystemen mög-lich sein. Während man anfänglich nur an eine Permeabilitäts-störung der befallenen Körperzellen gedacht hat, zeigen die neueren Untersuchungen, daß jede Anaerobiose von Körperzellen, Stauung, Umbau, Narkose, Zelltod, maligne Geschwülste zu einem Encymaustritt führt. Für die MDH, Ald und ADH ist dies nach den Untersuchungen von WARBURG, HESS und HAUSS nachgewiesen (16,17,18). Es ist auch ohne Zelltod ein Austritt von Ferment-eiweiß möglich, wie das die Untersuchungen von LA DUE, WRÓBLEWSKI und KARMEN, sowie BRUNS nachweisen (19,20).

Die hohen Werte bei Leukämien und besonderen Anämieformen sprechen für einen Übertritt der Encyme auch aus den Blutkör-perchen. Die Untersuchungen von WOLLER am Milzvenenblut (21)

lassen auch unter physiologischen Bedingungen die Herkunft der Encyme aus den abgebauten Blutkörperchen vermuten.

VERHALTEN DER UNTERSUCHTEN FERMENTE IM LIQUOR NEUROLOGISCH GESUNDER UND BEI VERSCHIEDENEN NEUROLOGISCHEN KRANKHEITSBILDERN.

Der Liquor neurologisch Gesunder oder leicht Erkrankter enthält Milchsäuredehydrase, Äpfelsäuredehydrase und Phosphatübertragendes Ferment I in einer mit den angewandten Methoden bestimmbarer Größenordnung. Damit nicht nachweisbar waren: Aldolase, Glutaminsäuredehydrase, Bernsteinsäuredehydrase, Hexokinase, Isocitricodehydrase, Triosephosphatdehydrase, Myokinase und Pyruvatkinase. Tabelle 4. Die Aldolase fehlt als einziges der untersuchten glycolytischen Fermente im Liquor, während sie im Serum darstellbar ist. Die Mittelwerte der beiden Fermente ADH und MDH wurden bei einer Gruppe aus sieben neurologisch Gesunden bestimmt. Es fand sich für die MDH als Mittelwert = 0,47 FE/ml Liquor, bezogen auf den Normalliquoreiweißgehalt = 1,81 FE/mg Liquoreiweiß. Für die ADH fand sich ein Wert von 0,85 FE/ml Liquor, bezogen auf das Protein = 48,76 FE/mg Eiweiß. Die Werte von PÜ I wurden nicht bestimmt, da in der Veröffentlichung von BÜCHER (22) Angaben hierüber enthalten sind.

Die Patienten wurden zur Auswertung der Ergebnisse für die MDH Encymaktivität in mehrere Gruppen gegliedert, in denen Krankheitsbilder gleicher oder ähnlicher Genese zusammengefaßt wurden. Tabelle 5. Es zeigte sich, daß sich die Mittelwerte der meisten Gruppen nicht wesentlich von einander unterscheiden. Zu diesen gehören: Psychiatrische Erkrankungen,

degenerative Bandscheibenschäden, Hirnatrophische Prozesse, Epilepsien, Folgezustände von Schädeltraumen, Morbus Pick, Multiple Sklerose und andere.

Dagegen waren die Differenzen der LDH-Werte verschiedener Formen der Meningitis gegenüber den normalen Fermentaktivitäten deutlich erhöht. Tabelle 6.

Wurden die Encymaktivitäten dagegen auf den Eiweißgehalt des Liquors bezogen, ergaben sich völlig neuartige Werte. Da der Liquoreiweißwert bei bakteriellen Formen der Meningitis und besonders bei der tuberkulösen Meningitis auf das drei- bis fünf- bis zehnfache seines Normalwertes erhöht ist, die LDH-Aktivitäten aber höchstens auf das zwei- bis dreifache ansteigen, resultieren bezogen auf mg % Eiweiß niedrigere Encymaktivitätswerte. Aus diesen Werten ergibt sich auch, daß der Fermentgehalt des Liquors seinem erhöhten Eiweißgehalt nicht genau parallel geht. Um eine mögliche gesetzmäßige Beziehung zu der Zellzahl und dem Eiweißgehalt des Liquors nachzuprüfen, wurden die Encymaktivitäten in Gruppen, abhängig von den beiden genannten Faktoren graphisch dargestellt. Tabelle 7. Es zeigt sich, daß der Mittelwert der Fermentaktivität bei höherem Eiweißgehalt zwar deutlich ansteigt, eine Beziehung (gerichtete Punktwolke) ist wegen der großen Streuung der Werte jedoch nicht nachweisbar. Das gilt ebenso für die Anzahl der Zellen im Liquor und einer möglichen parallelen Encymaktivitätenvermehrung.

Diskussion:

Der diagnostische Wert einer Fermentanalyse im Liquor er-

scheint gering. Eine signifikante Erhöhung fand sich nur bei den Erkrankungen der Meningen. Da die Meningitiden aber mit den an der Klinik als Routinemethoden eingeführten Untersuchungen ebenso wie aus dem klinischen Zustand gut diagnostizierbar sind, ist der Wert der Encymbestimmung dafür nicht groß. Da die Methode eine hohe Streubreite zeigt, ist eine Unterscheidung der verschiedenen Meningitisformen in jedem Fall sicher möglich.

Interessant sind die Ergebnisse im Vergleich zu denselben Encymaktivitäten im Serum. Dazu wurden bei 27 Personen die Serumwerte gleichzeitig mit den Liquorwerten bestimmt. Tabelle 8. Es besteht keine Proportionalität im Anstieg zwischen den Liquor- und Serumencymen. Einem hohen Liquorwert steht ein erhöhter Serumspiegel gegenüber. Die Normalverhältnisse der Liquorwerte 0,47 FE/ml zu den Serumwerten 3,44 FE/ml sind für die MDH/ml wie 1 : 7. Demnach liegt die absolute Konzentration der MDH im Liquor etwa siebenmal niedriger als im Serum. Die relative Konzentration bezogen auf das Gesamteiweiß dagegen 35 mal höher: Einem Encymgehalt von 1,81 FE/mg Liquoreiweiß steht nur ein Gehalt von 0,051 FE/mg Serumeiweiß gegenüber.

Für die ADH fanden sich folgende Werte: Serummittelwert = 1,29 FE/ml und 0,019 FE/mg Serumprotein. Liquormittelwert = 0,05 FE/ml Liquor und 1,81 FE/mg Eiweiß. Das Liquorencym der ADH verhält sich daher zum ADH Serumencym bezogen auf das Volumen wie 1 : 1,5. Die ADH Encymaktivität ist also im Serum 1,5 mal höher als im Liquor. Die relative Konzentration bezogen auf das Gesamteiweiß ist 90 mal größer als im Serum.

T a b e l l e 8

Mittelwerte der MDH Aktivitäten des Serums in Beziehung zur Höhe der MDH Aktivitäten des Liquors beim Menschen.

Gruppe	Anzahl d.Best.	Höchster u.niedrigster MDH-Wert d.jeweiligen Gruppe	Liquormittel- wert FE/ml L.	Serummittel- wert FE/ml S.
1	2	0,1 - 0,3	0,19	2,105
2	8	0,3 - 0,4	0,32	3,86
3	1	0,4 - 0,5	0,50	2,95
4	4	0,5 - 0,6	0,52	2,89
5	8	0,6 - 0,8	0,55	4,55
6	4	0,8 - ...	0,99	4,50

Die Liquor MDH-Werte wurden entsprechend der Höhe der MDH Aktivitäten in Gruppen zusammengestellt. Die Serum- und Liquormittelwerte dieser Gruppen wurden bestimmt.

Diese Befunde stimmen mit den vergleichenden Untersuchungen über Liquor und Serum auf anderen Gebieten überein. So finden sich Veränderungen im Elektrophoresebild (23) zwischen Liquor- und Serumweißzusammensetzungen. Ähnliches gilt von den Lipoproteinen (24) und den Aminosäuren (23). Daraus wurde die Theorie entwickelt, daß das Gleichgewicht zwischen Serum- und Liquorkonzentration nicht durch einen passiven Filtrationsvorgang, sondern durch einen aktiven Regulationsmechanismus geregelt wird (25). In diese Theorie könnte man den Befund einreihen, daß die Aldolase im Liquor nicht nachweisbar ist.

Nach übereinstimmenden Untersuchungen (26) ist bei der Menin-

gitis die Permeabilität der Blut-Hirnschranke erhöht. Der vermehrte Proteingehalt könnte durch einen vermehrten Übertritt der Serumweißkörper verursacht werden. Auch die vermehrt nachweisbaren Fermente würden demnach dem Serum entstammen.

VERHALTEN DER UNTERSUCHTEN FERMENTE IN ERYTHROCYTEN UND LEUCOCYTEN GESUNDER UND BEI VERSCHIEDENEN BLUTERANKHEITEN

Erythrocyten: Der Mittelwert der MDH Encymaktivität in Erythrocyten von Gesunden beträgt $0,05 \text{ FE}/10^6$ Zellen. Der MDH Mittelwert in Leucocyten von Gesunden beträgt $1,6 \text{ FE}/10^6$ Zellen, d. h.: Die weißen Blutzellen Gesunder enthalten etwa 32 mal mehr MDH als die roten Blutzellen. Der MDH Mittelwert der Erythrocyten des Leukämikerblutes unterscheidet sich nicht signifikant von dem aus den roten Blutzellen Gesunder: MDH Mittelwert der Erythrocyten von Leukämikern = $0,06 \text{ FE}/10^6$ Zellen.

Leucocyten: Dagegen fanden sich erhebliche Unterschiede der Encymaktivitäten gesunder und leukämischer weißer Blutzellen. In letzteren waren die Werte für MDH, Ald und PÜ I deutlich herabgesetzt. Die Aktivitäten aller untersuchten Fermente mit Ausnahme der GSDH sind auch in den weißen Blutzellen von Patienten mit Lymphatischer und Stammzellenleukämie deutlich niedriger als bei Myeloischer Leukämie. Da nur Einzelwerte zur Auswertung gelangten, konnte die Signifikanz nicht berechnet werden.

$$p \text{ MDH} = < 0,001$$

$$p \text{ Ald} = > 0,1$$

$$p \text{ PÜ}_I = < 0,01$$

Serum von Leukämikern: Während die untersuchten glycolytischen Fermente in den Leucocyten von Leukämikern herabgesetzt sind, fand sich ein Anstieg derselben Encymaktivitäten in ihrem Serum. Die Werte sind gegenüber den Normalwerten signifikant erhöht. Tabelle 9.

p MDH = $<0,001$

p Ald = $<0,01$

p PÜ_I = $<0,05$

Die Untersuchungen ergaben, daß in den weißen Blutzellen von Leukämikern drei Fermente der Glycolyse in ihrer Konzentration herabgesetzt sind: Ald, MDH und PÜ I. Gleichzeitig war die Konzentration derselben Fermente im Serum deutlich erhöht.

Diskussion:

Diese Tatsache läßt an die Möglichkeit eines Übertritts von Encymeisweiß ins Serum bei gesteigertem Leucocytenverfall denken. So kommt es bei einer Schädigung der Leucocyten zum Auftreten von Lysocym und Peroxydase im Serum (27,28). Sichere Beziehungen zwischen der Höhe des Serumspiegels und der Konzentration in den Leucocyten sind nicht nachweisbar. Diese Befunde decken sich mit den Ergebnissen älterer Untersuchungen von BECK und VALENTINE (29), die den O₂ Verbrauch, Milchsäurebildung und Glucoseverwertung gesunder und leukämischer weißer Blutzellen bestimmten. BECK (30) konnte den Nachweis erbringen, daß die Hemmung der Glycolyse leukämischer Zellen nicht durch einen zu niedrigen Gehalt der Zellen an Encymeisweiß bedingt ist. Demnach scheint es sich um einen Anpassungsvorgang auf herabgesetzte Funktion zu handeln. Neuere Befunde von KEIBL und SPITZY (31) weisen darauf hin, daß diese Verän-

derungen des Stoffwechselverhaltens leukämischer Zellen kein Zeichen einer krankhaften Reaktionsweise, sondern eher zu ihrem Reifegrad in Beziehung stehen.

Der Befund der stark gesenkten Encymkonzentration in den Leucocyten bei der Lymphatischen und Stammzellenleukämie spricht für die Auffassung von BIRD und CLEMENTS (32), nach deren Untersuchungen sich aerobe Glycolyse und O_2 Verbrauch gesunder und leukämischer Blutzellen nicht unterscheiden, wenn die Zahl der Blasten weniger als 20% beträgt.

Sichere Beziehungen zwischen peripherer Leucocytenzahl und ihren Encymaktivitäten ließen sich nach den hier vorliegenden Ergebnissen nicht nachweisen. Weder für das Verhältnis Leucocytenzahl und Encymaktivität, noch für die Beziehung Leucocytenzahl und Erhöhung im Serum. Zusammenhänge mit dem Differentialblutbild scheinen zu bestehen: Die Werte bei überwiegend unreifen oder lymphatischen Zellen lägen besonders niedrig. Wegen des relativ kleinen Zahlenmaterials an untersuchten Patienten mit den verschiedensten Formen der Leukämie lassen sich solche Gesetzmäßigkeiten aber vorher noch nicht aufstellen. Dasselbe gilt vom Einfluß der cytostatischen Therapie. Ein Vergleich der Patienten in der Gruppe der Myeloischen Leukämie, die teils behandelt, teils unbehandelt waren, zeigt, daß die Werte nicht deutlich voneinander abwichen.

DAS VERHALTEN DER UNTERSUCHTEN GLYCOLYTISCHEN ENCYME IN DER LEBER

Die Ergebnisse wurden für die vier angegebenen Krankheitsgruppen (s. Seite) getrennt ausgewertet. Die Werte wurden zu-

nächst auf das Frischgewicht der Leber bezogen. Tabelle 10.

T a b e l l e 10

	MDH	Ald	CoR	GSDH
I. Normale	924 ± 280	583 ± 264	5085 ± 3280	11480 ± 7090
II. Entzündl.	1700 ± 882 $p = < 0,05$	726 ± 566	7575 ± 6990	11810 ± 5210
III. Cirrhusen	1220 ± 1160	338 ± 128 $p = < 0,05$	4000 ± 2270	3885 ± 2100 $p = < 0,001$
IV. Degenerat.	870 ± 230	460 ± 287	5116 ± 5310	5480 ± 4170 $p = 0,001$

Die Ergebnisse unterscheiden sich bei den verschiedenen Gruppen deutlich. Da der Normalwert jedoch relativ weit streut, ist die Differenz der Mittelwerte nur in den in der Tabelle besonders genannten Fällen signifikant. Die MDH Encymaktivität ist bei entzündlichen Veränderungen der Leber signifikant erhöht. ($p = < 0,05$). Der Cirrhosewert der MDH ist bei der Hepatitis nur gering erhöht, die Differenz innerhalb der Streubreite. Die Aldolaseaktivität war dagegen bei Cirrhusen deutlich herabgesetzt ($p = < 0,05$). Bei entzündlichen Erkrankungen war sie mäßig, aber nicht signifikant gesteigert. Die Cytochrom-c-Reduktase zeigte innerhalb aller vier Gruppen keine signifikante Änderung. Die GSDH Encymwerte waren bei der entzündlich veränderten Gruppe gegenüber den Normalwerten unverändert, bei Cirrhusen und chronisch degenerativen Veränderungen

gen signifikant herabgesetzt (p in beiden Fällen $= < 0,001$). Diese Art der Berechnung, die Encymaktivitäten bezogen auf g Leber, gibt wohl die wahre Encymaktivität des Lebergewebes der einzelnen Gruppen wieder. Um die Frage der relativen Vermehrung oder Zunahme in den vier nach histologischem Umbau des Leberparenchyms gegliederten Krankheitsstadien zu klären, wurden die Encymaktivitäten auf den Stickstoff bezogen. Tab.11.

T a b e l l e 11

	MDH	Ald	CcR	GSDH
I. Normale	90,7 ± 45	55,5 ± 39	813 ± 443	2356 ±2385
II. Entzündl.	237 ±302	139 ±100	1135 ±1190	2771 ±2000
III. Cirrhosen	202 ±175	82 ± 74	1909,3 ±2862	2869,5 ±2406
IV. Degenerat.	124 ± 74	89,6 ± 43	742,6 ± 776	2074,6 ±1758

Die Unterschiede der einzelnen Krankheitsgruppen gegenüber der Norm waren hier weniger deutlich, signifikante Differenzen waren nicht festzustellen. Dieses Ergebnis spricht dafür, daß die Encymdifferenzen/g Leber deutlich und zum Teil signifikant waren, durch Veränderungen hervorgerufen sind, die nicht so sehr an den Parenchymzellen selbst, sondern sich im intrazellularen Raum abspielen.

Diskussion:

Einzelne Ergebnisse sind bezogen auf das Frischgewicht gegenüber der Norm deutlich verändert. Vor allem ist die Aktivität

der GSDH bei Cirrhosen und degenerativen Leberprozessen deutlich herabgesetzt. Die Aldolasewerte sind bei Cirrhosen herabgesetzt, die MDH Encymaktivität bei chronischen Entzündungsprozessen erheblich gesteigert.

Der Umstand, daß sich diese signifikante Änderungen dann nicht mehr zeigen, wenn die Werte auf den Stickstoffgehalt berechnet werden, spricht für eine Änderung im interstitiellen Gewebe. Da die eingewanderten Leucocyten besonders fermentreich sind, könnten Zusammenhänge mit ihnen bestehen.

Eine Untersuchungsreihe, in der 10 glycolytische Leberfermente von SCHMIDT, SCHMIDT und WILDHIRT (33) bei fünf Patientengruppen in verschiedenen klinischen Stadien der Hepatitis beobachtet wurden, zeigt, daß der Zeitpunkt der Untersuchung glycolytischer Leberenzyme bei einer Hepatitis von wichtiger Bedeutung ist. Das gilt sowohl für die Encymaktivität des einzelnen Encyms, als auch für die relative Zu- oder Abnahme anderer Fermente. Es scheint, daß die Histologie in die Funktionszustände der Leber nur bedingten Einblick vermittelt. Überwiegend sekundäre, bei dem hochdifferenzierten Gewebe relativ variationsarme Reparationsvorgänge machen eine exakte histologische Einteilung schwer. Diesem methodisch bedingten eintönigen Verhalten der Leber bei Schädigungen steht die Fülle der ausgeprägten Befunde der Fermentmethoden gegenüber.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Bruns F., Puls W.: Kli.Wo. 657, 1954
2. Warburg O., Christian W. : Bioch.Z. 282,157, 1935
3. Kubowitz, Ott : Bioch.Z. 314,94, 1943
4. Euler u. Mitarb. : Hoppe - Seyler's Z.f.phys.Chem. 245,217, 1937
5. Meyerhof, Ohlmeyer : Bioch.Z. 290,334, 1937
6. Bücher : Z.f.Naturf. 8b,555, 1953
7. Leuthardt F., Wolf H.P. : Helv.chim.acta 37,1734, 1951
8. Engelhardt A., Seitz W., Woller I.: Kli.Wo. 36,10, 1958
9. Ehrhard : Kli.Wo. 36,10, 1958
10. Hess B., Gehm E. : Kli.Wo. 91,33, 1955
11. Bruns F. : Bioch.Z. 325,429, 1954
12. Bruns F. : Bioch.Z. 326,242, 1955
13. Pfeleiderer G. : Bioch.Taschenbuch, Berlin, Springerv.1956
14. Warburg O., Christian W. : Bioch.Z. 314,399, 1943
15. Warburg O. : Z.f.Naturf. 9a, 1952
16. Warburg O., Hiepler E. : Z.f.Naturf. 76,93, 1952
17. Hess B., Raftopoulo R. : Dtsch.Arch.f.klin.Med. 204,97, 1957
18. Hauss W.H., Leppelmann H.I. : Kli.Wo. 957, 1957
19. La Due I.S., Wróblewski F., Karmen A.: Science 120,497, 1957
20. Bruns F., Neuhaus I. : Bioch.Z. 326,242, 1955
21. Woller I., Hof I. : Kli.Wo. 34,98, 1956
22. Bücher, Matzelt, Pette D. : Kli.Wo. 325, 1952
23. Esser H., Heinzler F. : Schweiz.med.Wschr. 178, 1955
24. Wunderly Ch., Piller S. : Kli.Wo. 32,425, 1954

25. Frick E. : Habilitationsschrift, München
26. Smith H.V., Taylor L.M., Hunter G.H. : J.Neurol. 18,237, 1955
27. Flanagan P. : Blood 10,497, 1955
28. Henning N.L., Demling L., Hartlein U. : Kli.Wo. 222, 1949
29. Beck W.S., Valentine W.N. : Cancer Research 13,309, 1953
30. Beck W.S. : J.Biol.Chem. 216,335, 1955
31. Keibl E., Spitzzy K.H. : Arch.exper.Pharm. 213,162, 1951
32. Bird R., Clements I., Becker L. : Cancer 4,1009, 1951
33. Schmidt E., Schmidt F.W., Wildhirt E. : Kli.Wo. 35,16, 1957

Herrn Professor Dr. W. SEITZ sei für die
Überlassung des Themas sowie für die Über-
nahme des Referates herzlich gedankt.

Lebenslauf

Ich wurde am 2. September 1931 als Sohn des Kraftfahrers Josef Marz und seiner Ehefrau Franziska in Augsburg geboren.

Von 1938 bis 1942 besuchte ich die Domschule in Augsburg. Anschließend trat ich in das Realgymnasium über, wo ich nach neun Klassen im Juni 1952 mein Reifezeugnis mit großem Latinum erhielt. Im gleichen Jahr immatrikulierte ich mich an der Ludwig - Maximilians - Universität München, in der Philosophischen Fakultät, der ich zwei Semester angehörte. Darauf begann ich im Wintersemester 1953 Medizin zu studieren. Nach dem 5. Semester bestand ich dort das Physikum. Die klinische Studienzeit beendete ich nach sechs Semestern, die ich alle in München verbrachte, mit dem Staatsexamen im Juni 1959.

